Istituto di Anatomia Patologica della R. Università di Padova
(Direttore; Prof. A. Bonome)

ULTERIORI RICERCHE
SULL'AMILOIDOSI SPERIMENTALE

pel Dr. ETTORE RAVENNA
assistente e libero docente

Estratto dal giornale " La Clinica Veterinaria „
Anno 1910

MILANO
PREMIATA TIPOGRAFIA " AGRARIA „
8 - Via Agnello - 8
—
1909.

Istituto di Anatomia Patologica della R. Università di Padova
(Direttore: Prof. A. Bonome)

ULTERIORI RICERCHE
SULL'AMILOIDOSI SPERIMENTALE

pel Dr. ETTORE RAVENNA
assistente e libero docente

Estratto dal giornale " La Clinica Veterinaria „
Anno 1910

MILANO
PREMIATA TIPOGRAFIA " AGRARIA „
8 - Via Agnello - 8
—
1909.

Nella comunicazione letta al primo Convegno dei Patologi Italiani in Torino nel 1902 e nella pubblicazione fatta nello « Sperimentale » (Fasc. 2° del 1903) sui risultati costantemente negativi di numerosi miei esperimenti che avevano lo scopo di provocare la degenerazione amiloide, mi parve tuttavia prudente di non sollevare alcun dubbio intorno alla possibilità di riprodurre sperimentalmente tale degenerazione. Ritenni utile allora di rendere note le mie osservazioni anche se negative, specialmente perchè esse venivano a costituire un appunto critico alla recisa affermazione del *Krawkow* che l'amiloide si può ottenere sempre e senza eccezione nei polli mediante iniezioni di stafilococco piogene aureo, e perchè esse fornivano inoltre un valido argomento per sostenere che negli animali da me adoperati, cioè nei conigli, nei polli e nei ratti bianchi, non si produceva l'amiloide neppure provocando con vari mezzi gravi alterazioni discrasiche e trofiche.

Quantunque a quella dei miei risultati seguisse a breve distanza di tempo la pubblicazione di risultati egualmente negativi di ricerche sperimentali fatte dal *Tarchetti* (1) mediante iniezione nei conigli di stafilococco aureo e di olio di trementina, restava ferma in me la persuasione che fosse possibile ottenere l'amiloidosi sperimentale provocando processi suppurativi. Ne davano affidamento da una parte l'autorità indiscutibile delle scuole di patologia in cui si era con successo sperimentato sull'argomento; d'altra parte l'analogia che si veniva artificialmente a creare colle condizioni morbose nelle quali insorge di solito la forma spontanea di tale degenerazione. Non abbandonai perciò questo campo di studio e dal 1903 in poi

---

(1) TARCHETTI - Untersuchungen über experimentelle amyloide Entartung. " Deutsche Archiv für klinische Mediciu „. Band 75, S. 526, 1903.

sottoposi ad esame mediante trattamento con soluzione acquosa di metilvioletto o con soluzione di jodio e di acido solforico, sezioni al microtomo congelatore di organi freschi di tutti gli animali venuti a morte in questo Istituto con suppurazioni acute o croniche, provocate ad arte o accidentalmente insorte nel corso di svolgimento di talune ricerche sperimentali. Da allora circa cinquanta animali fra conigli e cavie vennero esaminati e sempre con risultato negativo. Si vide in alcuni conigli assumere colla soluzione di metilvioletto una tinta violetta tendente al rosa diffusa ora la parete di qualche vaso sanguigno del fegato, ora la porzione midollare del rene; ma alla sovrapposizione della goccia di glicerina e del vetrino coprioggetti ben presto questa tonalità spariva per lasciare luogo a violetto omogeneo. Nessuna importanza attribuii a tale reperto, perchè eguale cosa vidi succedere (e già lo notai) negli stessi visceri di animali sani.

Nel novembre 1908 isolavo dalla polpa splenica, dal sangue e da ascessi di vari organi di donna morta per setticopiemia uno stafilococco aureo patogeno per il coniglio, di cui alla dose di $^1/_2$ cc. di brodocultura di 24 ore iniettata sottocute produsse la morte dopo sette giorni con reperto di escara contornata da pus nella località d'innesto.

Ripetendo anche questa volta quanto era diventato per me un'abitudine, sottoposi ad esame coi metodi di tecnica per il rilievo dell'amiloide i visceri del coniglio. Ne ebbi esito negativo in fegato e milza e il reperto della colorazione violetto-rosea della sostanza midollare dei reni; che non avrebbe fermato la mia attenzione, se questa volta non avessi notato che all'allestimento completo del preparato con glicerina e coprioggetti non seguiva la scomparsa immediata o rapida di questo tono di tinta, che invece, quantunque diminuito di intensità, poteva ancora vedersi dopo 4-5 giorni.

Avevo letto allora un lavoro recente del *Davidsohn* (1) in cui l'Autore affermava che l'animale più adatto per la riproduzione sperimentale dell'amiloide mediante iniezioni di stafilococco aureo era il topolino bianco. Perciò mentre col germe in questione andavo producendo focolai suppurativi in altri conigli normali o digiunanti, allo scopo di ricercare se decorso più lento dell'infezione e ancora una volta se il deperimento organico potessero facilitare l'insorgenza della degenerazione amiloide; e mentre sottoponevo ad eguale trattamento anche ratti bianchi come assai più resistenti ed adatti alla produ-

---

(1) Davidsohn - Untersuchungen über die Ätiologie des Amyloids. " Virchows Archiv. „. Band 192, S. 226, 1908.

zione ripetuta di ascessi per lunghissimo periodo di tempo; iniziai anche una serie di esperimenti in un gruppo di topolini bianchi. Il ceppo di stafilococco aureo che possedevo pensai potesse essere eventualmente il più indicato per simili tentativi, avendo nel coniglio prodotto una reazione tintoriale ben lontana, è vero, dalla caratteristica dell'amiloide, ma che pur tuttavia aveva dell'insolito ed in più una tonalità di rosa abbastanza duratura.

L'esito di questi esperimenti sui topolini essendo stato positivo, provai, sempre sul topolino bianco, che mi parve senz'altro l'animale adatto per eccellenza per questo studio, altri tre ceppi di stafilococco aureo. I risultati superarono l'aspettativa, non solo perchè confermarono l'asserto del *Davidsohn*, ma perchè, per la costanza nello sviluppo della degenerazione e per alcuni speciali reperti, l'insieme dei miei esperimenti potè riprodurre il quadro forse più completo ed interessante dell'amiloidosi finora artificialmente ottenuta. Se ne può giudicare dalla rapida esposizione, che passo a fare, dei più caratteristici dettagli forniti e dal decorso delle esperienze e dagli esami anatomici macro e microscopici.

PRIMA SERIE DI ESPERIENZE.

Iniezioni di culture di stafilococco piogene aureo.

Alla illustrazione dei risultati positivi ottenuti sui topolini bianchi non mi sembra del tutto superfluo fare precedere brevissimi cenni sulle modalità di esperimento seguite nei ratti e nei conigli.

Al primo coniglio che, trattato con iniezioni sottocutanee di $^1/_2$ cc. di brodocultura di 24 ore di aureo isolato nel caso di setticopiemia mortale, aveva dopo sette giorni presentato escara nella località d'innesto e colorazione diffusa violetto-rosea nella porzione midollare e nella parete di qualche vaso della corticale del rene, feci seguire tentativi sperimentali consimili in altri quattro conigli col medesimo ceppo di stafilococco. E precisamente uno di essi ricevette sottocute prima $^1/_2$ cc. e quattro giorni dopo 1 cc. di brodocultura di 24 ore: si sviluppò una sacca marciosa nella località d'innesto (connettivo sottocutaneo del dorso) e la morte avvenne in decima giornata.

Allo scopo di produrre un andamento più cronico dell'infezione, ad altro coniglio le iniezioni vennero fatte sei mesi più tardi con germe attenuato e tenuto in vita mediante semplici trapianti. Esse iniezioni furono nove entro la cavità peritoneale ad intervalli di 5 a 10 giorni a dose gradatamente

crescente da uno a tre centimetri cubici di brodocultura di 24 ore e per un periodo complessivo di 44 giorni.

Due conigli vissero una diecina di giorni sotto l'azione combinata del digiuno pressochè completo e dell'iniezione del germe, che alla dose di 1 cc. venne introdotto sottocute una volta in un animale, due volte nell'altro. Il deperimento in entrambi fu assai spiccato, riducendosi il peso di circa 500 grammi.

Con altro ceppo di stafilococco aureo, isolato da un patereccio, provocai la morte in un primo coniglio dopo sette giorni e due iniezioni di $^1/_2$ cc. di brodocultura di 24 ore, in un secondo dopo 15 giorni e tre iniezioni sottocutanee, in un terzo infine dopo 5 giorni ed un'unica iniezione endoperitoneale.

Eccezione fatta di uno dei conigli digiunanti, che al pari del primo mostrò colorazione violetto-rosea diffusa di qualche vaso del fegato e della porzione piramidale del rene, gli altri presentarono costantemente i visceri (milza, fegato, reni, intestino e stomaco, cuore e ghiandola sottomascellare) tinti in violetto omogeneo dopo il trattamento colla soluzione acquosa di metilvioletto, in giallo chiaro dopo il trattamento con soluzione di jodio. Se in sezioni di rene di alcuno di questi animali apparve ad un esame microscopico istituito subito il tono violetto roseo della porzione piramidale del rene, a preparato finito, tosto questa intonazione videsi svanire.

Esito completamente negativo nei riguardi delle reazioni tintoriali dell'amiloide sortirono gli esami dei visceri dei ratti bianchi sottoposti a lunghissimo trattamento. Col ceppo della setticopiemia feci 15 iniezioni sottocutanee ad un animale per il periodo di sei mesi, endoperitoneali ad altri quattro animali per periodi variabili da due a quattro mesi e numero di iniezioni da tre a dieci: costante fu il reperto di focolai suppurativi sotto forma di ascessi o di adeniti dei gangli linfatici addominali e intratoracici. Collo stafilococco isolato dal patereccio trattai tre ratti bianchi, che lasciai in vita da uno a due mesi, facendo in questo periodo quattro iniezioni endoperitoneali sempre di brodocultura di 24 ore e a dosi crescenti: ebbi in un caso reperto di peritonite purulenta, negli altri due di adeniti suppurative.

La difficoltà di procurarmi topolini bianchi fu causa che su di essi iniziassi le prime esperienze, cioè quelle col ceppo di stafilococco aureo isolato nel caso di setticopiemia, quando questo germe era già attenuato e precisamente oltre un mese e mezzo da che lo avevo ottenuto in cultura pura e trapiantato successivamente due volte in agar. E lo iniettai sottocute ad una coppia di topolini (che di più allora non potei averne) in dose di un'ansa di brodocultura di 24 ore per ciascuno: a

questa iniezione un'altra ne feci seguire di 2 goccie sette giorni dopo, ed uno degli animaletti, per l'insorgenza ed il rapido estendersi di un'escara, venne a morte in dodicesima giornata mentre l'altro sopravvisse ancora otto giorni, in tutto quindi giorni 20, sopportando altre due iniezioni di brodocultura con rispettive dosi di 3 e di 5 goccie. Sottoposi sezioni fatte a fresco col microtomo congelatore dei visceri di questi due topolini alla colorazione con soluzione acquosa di metilvioletto e con soluzione jodica. Questa diede sempre la medesima tonalità gialliccia, mai il benchè minimo accenno al colore mogano; quella riprodusse evidentissima metacromasia soltanto nella milza di entrambi i topolini. Risultarono cioè, in contrasto con estese zone di parenchima splenico tinte in violetto, dei blocchi omogeneamente tinti in rosa, sparsi o per lo più riuniti ad accumuli irregolari, blocchi di forma e volume svariato, aventi sede in corrispondenza ora della polpa, ora dei follicoli.

Mi fu possibile di riprendere tentativi sperimentali sui topolini bianchi soltanto sei mesi più tardi ed il primo esperimento, perchè molto dimostrativo, descrivo qui a parte. Il topolino fu iniettato sottocute con tre goccie di brodocultura di 24 ore del ceppo di stafilococco isolato dal caso di setticopiemia, germe lasciato attenuare in laboratorio e solamente trapiantato allo scopo di mantenerlo vitale; dopo sette giorni ricevette altre quattro goccie di brodocultura e la mattina seguente fu trovato morto. Nella milza, che pur nulla presentava di rilevabile all'esame macroscopico, la soluzione di metilvioletto colori in rosa blocchetti isolati o riuniti in guisa da formare delle striscie o degli accumuli irregolari: nella milza stessa non si ebbe colore rosso-mogano dopo il trattamento jodico.

Questi primi risultati incoraggianti e che bene lumeggiano le modalità colle quali l'amiloide si inizia, dimostrando che essa comincia dalla milza, e che può insorgere molto presto in seguito a iniezioni di scarsa quantità di virus anche attenuato, mi indussero a insistere negli esperimenti sul topolino bianco, allo scopo di tentare la riproduzione del quadro completo dell'amiloidosi. Collo stafilococco dal caso di setticopiemia potei in due topolini prolungare il trattamento per un mese e 4-6 giorni, facendo in tale periodo di tempo sette iniezioni di brodocultura con dose iniziale di 3 e dose ultima di 8 goccie. Con un ceppo di stafilococco isolato da patereccio feci tre iniezioni in due topolini nel periodo di 12 e di 16 giorni rispettivamente, e sei iniezioni in altro topolino in 34 giorni sempre colle stesse dosi crescenti progressivamente. Isolai or sono due mesi altri due ceppi di stafilococco aureo da focolai suppurativi acuti, uno del labbro l'altro della regione mastoidea: per ciascuno

istituii eguale e contemporaneo trattamento in una coppia di topolini bianchi e sacrificai una coppia dopo 25 giorni, l'altra dopo un mese, avendo cinque volte a distanza varia di tempo iniettato sottocute a ciascun animale da una fino a sei goccie di brodocultura di 24 ore. Per amore di brevità riassumo il reperto dell'amiloidosi, che ebbi costante in tutti i topolini, cioè in dodici:

All'esame macroscopico l'unico viscere modificato era la milza ed anche essa solo nei casi di più lungo trattamento: mostravasi allora aumentata di volume, con capsula modicamente tesa, più consistente e sbiadita, roseo gialliccia e con tendenza alla lucentezza lardacea. In quattro topolini questi caratteri, essendosi già resi notevolmente spiccati, riproducevano nel viscere fino ad un certo punto i caratteri coi quali nell'uomo si suole presentare la degenerazione amiloide. Non per questo ai dati riferiti intendo attribuire importanza patognomonica specifica, rammentando che molli vengono descritti dal *Krawkow* (1) i visceri di conigli e di polli in cui le reazioni microchimiche dell'amiloide riuscirono positive, e che di più comunemente assai diminuiti di consistenza, ridotti talora fino a poltiglia, si presentano i fegati di cavalli affetti da amiloide spontanea.

Le alterazioni microscopiche relative all'amiloide, astraendo per il momento dal fatto che si presentarono nel maggior numero di organi e quivi più diffuse sempre in rapporto alla durata del periodo di esperimento, possono venire illustrate nella seguente descrizione sintetica:

a) *Milza.* — In tutti i casi riuscì positiva la reazione metacromatica col metilvioletto; nei casi di trattamento più lungo ebbi anche la colorazione rosso-mogano coll'jodio, che spiccatissima risultò nel topolino iniettato sette volte in un periodo di 36 giorni con brodocultura dello stafilococco aureo di provenienza dai visceri della donna morta di setticopiemia. Alla successiva azione dell'acido solforico la tinta mogano mai si trasformò in violetto o in verdognolo. In rosa col violetto di metile e più di rado in rosso mogano colla soluzione jodica si colorivano blocchi omogenei variamente tra loro raggruppati, con sede tanto nei cordoni della polpa splenica che nei folli-

---

(1) KRAWKOW. - Ueber bei Thieren experimentell hervorgerufenes Amyloid. " Centralblatt für allgem. Pathologie und patholog. Anatomie „. Band. VI, 1895.

De la dégénérescence amyloide et des alterations cirrhotiques provoquées expérimentalement chez les animaux. " Archives de Médecine expérimentale et d'anatomie pathologique „. Vol. VIII, 1896.

coli, e aumentava, a danno del parenchima normalmente colorabile, il quantitativo di essi blocchi metacromatici, fino a sostituire pressochè completamente il tessuto e a dominare parecchi campi microscopici sottoposti ad esame.

b) *Fegato*. — Sempre negativa la reazione jodica, positiva quella al metilvioletto, fatta eccezione dai casi di breve trattamento, in cui, come già dissi, caratteristiche istochimiche dell'avvenuta degenerazione si resero evidenti soltanto nella milza. Inoltre mai come in questa ultima si raggiunse notevole estensione dei fatti degenerativi. Nel fegato invero si colorirono in rosa o soltanto qualche tratto di parete vasale (rami portali, venula centroacinosa e vasellini arteriosi), o cordoni di cellule epatiche irradiantisi dal contorno di un vaso degenerato: più raramente qualche blocchetto rosa si potè osservare in mezzo al tessuto epatico ancora d'aspetto istologico normale. Ritengo debba mettersi in rapporto alla circostanza che in quest'organo il processo è più recente che nella milza, un dettaglio che sembrami importante: Che cioè non si tratta qui di blocchi irregolari che più non presentano traccia della struttura di elementi del tessuto preesistente, ma che da un lato i tratti di parete vasale colpita non debordano mai dallo spessore della parete medesima, e che d'altro lato le irradiazioni perivasali sono di solito ordinate come le file di cellule epatiche e costituite non di rado dal succedersi di blocchetti di un rosa omogeneo, ma conservanti ancora forma e volume pressochè eguali a quelli delle cellule epatiche. Ritengo importante questo dettaglio, in quanto potrebbe dare appoggio all'opinione che nel fegato trattasi di una vera degenerazione, rispettivamente del connettivo della parete vasale e delle cellule epatiche, piuttosto che di un fenomeno di infiltrazione.

c) *Rene*. — Negativo l'esame microscopico dopo la colorazione all'iodio o al metilvioletto nei topolini trattati per breve tempo. I primi accenni della degenerazione si scorgono, dopo circa tre settimane di trattamento e tre iniezioni, in qualche ansa di alcuni glomeruli: il grado più avanzato, raggiunto nei reni di topolini sopravvissuti più tempo e più volte iniettati, è rappresentato dalla colorazione rosa omogeneamente diffusa di tutte le anse dei glomeruli. Mai accenno alla metacromasia in altre porzioni di rene, mai positiva la reazione iodica.

d) *Ghiandola sottomascellare*. — Riferisco su questa ghiandola perchè in scala di frequenza viene subito dopo il rene nel presentarsi colpita dalla degenerazione amiloide. Alla medesima poi rivolsi di preferenza la mia attenzione fra le ghiandole salivari, ricordando uno studio fatto sopra di essa dal

Dantchakow (1) intorno alla insorgenza, alla diffusione e al riassorbimento della sostanza amiloide artificialmente prodotta nel coniglio; studio nel quale vengono descritte diverse fasi di alterazione citologiche degli epiteli secernenti oltre alla degenerazione amiloide spiccatamente avanzata delle pareti vasali.

La tecnica da me seguita fu diversa da quella del *Dantkakow*, il quale procedeva alla colorazione dei pezzi fissati ed inclusi. Io invece adottai sempre il procedimento delle reazioni caratteristiche su pezzi freschi sezionati al microtomo congelatore, e fu così che potei mettere in evidenza nelle sotto-mascellari dei topolini più a lungo trattati, quelli sopravvissuti cioè tre o più settimane, una tinta rosa metacromatica, nei preparati coloriti colla soluzione di metilvioletto, del connettivo che costituisce la membrana di basamento degli epiteti funzionanti in qualche tratto del parenchima ghiandolare. Sempre negativa riuscì la reazione iodica.

E poichè ho accennato or ora ai metodi tecnici di allestimento di preparati microscopici, dopo avere aggiunto, a mo' di chiusa della descrizione istologica, che fra gli altri organi e tessuti sottoposti ad osservazione, cioè cuore, polmoni, muscoli striati, stomaco e intestino, ottenni la tinta rosea metacromatica soltanto nel connettivo di alcuni villi del tenue del topolino iniettato più spesso e per un tempo più lungo; completo l'illustrazione dei risultati dei miei esami, ricordando che l'amiloidosi sperimentalmente da me ottenuta nel topolino potè essere messa in rilievo soltanto colla pratica raccomandata all'uopo delle sezioni e colorazioni di visceri freschi. Quando sopra tutti i visceri degli animali trattati, tentai, allo scopo di ottenere preparati più duraturi, l'inclusione in paraffina, previo rapidissimo indurimento in alcool, e le colorazioni successive colla soluzione acquosa di metilvioletto e di iodio, e chiusura del preparato con glicerina o a secco con balsamo, ebbi costantemente risultati poco dimostrativi.

Del resto a rassodare la convinzione di essere in presenza di una sostanza amiloide molto simile a quella che nell'uomo e negli animali si produce spontaneamente concorrono parecchi dati. Fra i principali sono la sede di preferenza nella tonaca vasale, come fu visto nel fegato e nel rene; o nel connettivo, come fu visto nella ghiandola sottomascellare; l'aspetto frequente a blocchi di forma irregolare; il colorito spiccatamente rosa in contrasto evidentissimo col violetto del tessuto circo-

---

(1) DANTKAKOW - Uber die Entwiklung und Resorption experimentell erzeugter Amyloidsubstanz in den Speicheldrüsen von Kaninchen. " Virchows Archiv „ Band 187, Helf. I., S. 1, 1907.

stante, e infine negli esemplari di milza di alcuni topolini la reazione positiva rosso-mogano coll'iodio, per quanto non seguita dal colore violetto o verdognolo sotto l'azione dell'acido solforico; fatto però questo che bene spesso si verifica pure nei casi di amiloide spontanea. Aggiungo a tali dati la durata delle reazioni caratteristiche, le quali, benchè di molto attenuate, sono visibili ancor oggi nei preparati di milze di topolini allestiti lo scorso giugno.

Il quadro dell'amiloidosi nel topolino, per quanto io non sia riuscito a studiarlo in periodi così avanzati come di solito si osserva nell'uomo, sembra che in alcuni organi, come nel fegato, per la sua sede di distribuzione si avvicini di più a quello dell'uomo che a quello del cavallo.

Risulta infatti dalla descrizione e da una figura della tavola annessa alla presente nota che l'amiloide del fegato prevale, come si può osservare nell'uomo, al centro di un acino: e ricorda invece il *Wiktorow* (1) in una monografia sull'amiloide del cavallo che in questo animale ne è sede di elezione la periferia dell'acino epatico.

Aggiungo a quelli microchimici un altro carattere proprio dell'amiloide che potei osservare nei miei esemplari più avanzati del processo sperimentalmente riprodotto, il ritardo cioè del sopravvenire della putrefazione nella milza dei topolini.

Risulta da queste osservazioni quanto anch'io, oltre ad altri ricercatori, mi sia potuto avvicinare, sperimentando con culture di strafilococco piogene aureo, al quadro della degenerazione amiloide spontanea. Allo scopo di meglio indagare il meccanismo intimo di azione dello stafilococco nei riguardi dello sviluppo della sostanza amiloide, furono istituite da parecchi autori ricerche sperimentali coi prodotti tossici del germe in questione. Con simili ricerche credetti opportuno completare il mio studio: brevemente riferisco i tentativi fatti.

SECONDA SERIE DI ESPERIENZE.

Iniezioni di tossine dello stafilococco piogene aureo.

Dei due ceppi di stafilococco aureo isolati più recentemente, dal focolaio suppurativo del labbro e da quello della regione mastoidea, preparai le eso- e le endotossine. Ottenni le prime mediante filtrazione attraverso candele Berkefeld di culture in brodo dopo tre giorni di permanenza in termostato;

---

(1) WIKTOROW - Zur Frage über die Amyloide Entartung der Leber und der Milz beim Pferde. Jahresbericht ueber die Leistungen auf dem Gebiete der veterinär Medicin. " Ellemberger und Schütz„, 1906, S. 192.

le seconde uccidendo col calore (50°) patine da culture in agar di quattro giorni, diluite in soluzione fisiologica. Altre culture di agar di 48 ore mi servirono per la preparazione del nucleo proteide, fatta seguendo le prescrizioni suggerite da *Lustig* e *Galeotti*. A questo proposito noto che il dissolvimento dei corpi batterici nella soluzione sodica avveniva a stento e lentamente, per cui essa soluzione mi sembrò convenisse adoperarla al 2 % in acqua distillata e sterilizzata. Noto inoltre che il liquido limpido decantato, all'aggiunta dell'acido acetico diluito diede luogo a un precipitato piuttosto diffuso che fioccoso; il quale tuttavia restava poi sul filtro, donde veniva raccolto nella soluzione di carbonato di soda al 2 %. Superfluo il ricordare che prima dell'uso mi assicuravo con tentativi culturali della conservata sterilità e dei filtrati e della diluzione di bacilli morti e dei nucleoproteidi.

Coi filtrati si iniettarono nel periodo di oltre un mese, otto volte e con dosi che da due goccie progressivamente vennero aumentate fino a 15, in tutto otto topolini; quattro cioè per ciascun ceppo di stafilococco. La densissima sospensione in Na Cl di cocchi uccisi col calore venne inoculata in sei topolini; tre di questi ricevettero in un mese sei iniezioni sottocutanee di due fino a otto goccie; colle medesime modalità vennero inoculati altri tre topolini: uno dei gruppi collo stafilococco di provenienza dal labbro, l'altro gruppo collo stafilococco proveniente dalla regione mastoidea. Finalmente col nucleo-proteide ottenuto da un ceppo feci cinque iniezioni nel periodo di un mese a due topolini; cinque iniezioni nello stesso lasso di tempo ad un altra coppia di animali col nucleo-proteide ottenuto dall'altro ceppo.

Non ritenni superflo descrivere dettagliatamente la tecnica seguita nella preparazione delle tossine, il numero e le modalità delle iniezioni e ricordare il periodo di durata del trattamento, perchè non si possa sospettare doversi a deficienze tecniche e sperimentali l'esito costantemente negativo nei riguardi della degenerazione amiloide. Le reazioni microchimiche difatti non si ottennero in nessuna delle molte sezioni di visceri freschi sottoposti alla colorazione col metilvioletto e coll'iodio.

Questi risultati collimano per le esotossine coi recentissimi di *Davidsohn* (1), oltre che con quelli nell'altra mia nota ricordati di *Krawkow* (2) e di *Cesaris-Demel* (3).

---

(1) e (2) Op. cit.

(3) CESARIS-DEMEL - Beitrag zum Studium des Exsperimentellen Marasmus. " Ziegler's Beiträge „ Band XXI.

Per quanto invece riguarda i corpi bacterici in toto e il nucleo-proteide da essi ricavato non posso portare una conferma ai reperti pure recentissimi di *Davidsohn,* il quale nei topolini bianchi ottenne l'amiloide anche iniettando le proteine dello stafilococco; e tanto meno posso dare appoggio all'opinione di *Schepilewski* (1), che cioè i bacilli morti si prestino meglio delle culture vive, in quanto permettono un trattamento più cronico, per determinare l'insorgenza della degenerazione amiloide.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE.

I risultati delle mie esperienze dimostrano che alfine io ho raggiunto lo scopo che da qualche anno mi ero prefisso, quello cioè di ottenere la degenerazione amiloide sperimentale. Essi non portano alcuna luce su punti controversi e di soluzione difficile, quali sarebbero, ad esempio, il valore da attribuirsi alle singole reazioni microchimiche, il meccanismo intimo di produzione di questa sostanza anormale e la vera essenza del processo; se si tratti cioè di una degenerazione, ossia di una trasformazione diretta degli elementi, oppure di una infiltrazione. A risolvere questo difficile problema non pretendo di aver portato innanzi a favore della degenerazione un argomento decisivo nel reperto sopradescritto del fegato, di blocchetti amiloidi che presentano forma e dimensione di cellule epatiche e che delle medesime seguirebbero il piano di orientazione, a file irradianti dalle pareti della venula controlobulare. Contro l'ipotesi della degenerazione rimane tuttora, quantunque non sufficientemente provata, l'ipotesi sostenuta anche da *Schmidt* (2) al congresso dei patologi tedeschi del 1904, sulla base delle ricerche di questi ultimi anni, che cioè « il processo che porta alla degenerazione amiloide negli organi sia non una trasformazione di tessuto, ma una infiltrazione ».

Neppure sul valore delle reazioni coloranti mi è concesso esprimere un'opinione sicura basata sopra osservazioni personali, attesochè assai raramente e soltanto nelle milze ottenni il colorito rosso-mogano trattando coll'iodio; mai l'azzurro verdognolo coll'azione successiva dell'acido solforico; e resta perciò tra le reazioni coloranti pressochè esclusiva nei miei casi la metacromatica determinata dal metilvioletto. È da notarsi però che se la reazione dell'iodio si verifica (e ciò risulterebbe anche dai miei esperimenti) a trattamento più prolungato, questo può

---

(1) SCHEPILEWSKY - Experimentelle Beiträge zur Frage der amyloiden Degeneration. " Centralblatt für Bakteriologie, ecc. „, Band 25, N. 24, 1899.

(2) SCHMIDT - Referat über Amyloid. Verhandlungen der deutschen pathologischen Gesellschaft. " Jahrgang „, 1904, Heft, I.

significare, come crede il *Lubarsch*, un grado maggiormente avanzato della degenerazione. Invece lo *Schmidt* pensa a questo proposito o che siano intervenuti fenomeni regressivi tali da avere indebolito fino alla scomparsa la reazione iodica che prima serebbe stata evidente; oppure che si debba fare la supposizione, molto vaga, che in alcuni individui l'amiloide non porti seco la tendenza di dare coll'iodio la colorazione rosso-mogano.

Non mi sembra neppure il caso che io segua il *Davidsohn* (1) nel ragionamento che egli fa per dimostrare doversi la produzione della sostanza amiloide alla nucleina liberatasi dai focolai necrotici determinati nella milza dall'azione piuttosto delle tossine strafilococciche che dei germi vivi. Certo, poichè guadagna sempre più terreno la convinzione che, se non esclusivamente, nondimeno precipuamente allo stafilococco aureo debbasi l'insorgenza dell'amiloide, la produzione di questa sostanza è assai verosimile sia da mettere in rapporto, come il *Davidsohn* stesso ricorda, coi due fatti peculiari legati alla presenza dello stafilococco aureo: 1° L'azione squisitamente necrotizzante esercitata dallo stafilococco sopra gli elementi cellulari; 2° il richiamo in sito per attività chemiotattica di gran numero di leucociti. I miei esperimenti verrebbero a dimostrare, in contrasto con quelli di *Davidsohn* e di *Schepilewsky*, che al germe vivo piuttosto che alle sue tossine o alle sue proteine è dovuta l'insorgenza dell'amiloide, e che a produrla il metodo sperimentale più adatto è quello dell'iniezione di cultura di stafilocco piogene aureo.

Volendo ora riassumere i risultati delle mie ricerche, mi sento autorizzato a formulare le seguenti proposizioni principali:

1° *Nel topolino bianco ho ottenuto costantemente la degenerazione amiloide mediante iniezioni di brodocultura di stafilococco piogene aureo.*

2° *L'amiloide sperimentale comincia nella milza, e può insorgere molto presto, essendo già evidente in ottava giornata di trattamento.*

3° *A produrre la degenerazione amiloide è sufficiente poca quantità di virus; in due topolini infatti bastarono due scarse iniezioni sottocutanee. Il germe anche attenuato può produrre l'amiloidosi assai rapidamente.*

4° *Iniezioni di filtrati, di germi uccisi col calore e di nucleo-proteidi preparati con due ceppi di stafilococco aureo non produssero nei topolini bianchi da me trattati la degenerazione amiloide.*

---

(1) Vedasi la discussione sull'amiloide nella stessa seduta del Congresso dei patologi tedeschi nel 1904.

SPIEGAZIONE DELLE FIGURE.

Si tratta sempre di sezioni di visceri freschi fatte col microtomo congelatore, colorite con soluzione acquosa di metilvioletto ed esaminate al microscopio (Reichert) con deboli ingrandimenti (Oc. 3 Obb. 3 o 5). Le parti colorite in rosa rappresentano la sostanza amiloide.

Fig. 1. — Milza di topolino trattato con due iniezioni sottocutanee di brodocultura di stafilococco aureo, morto in ottava giornata.

Fig. 2. — Miiza di topolino che ha ricevuto sette iniezioni sottocutanee di stafilococco aureo in 36 giorni.

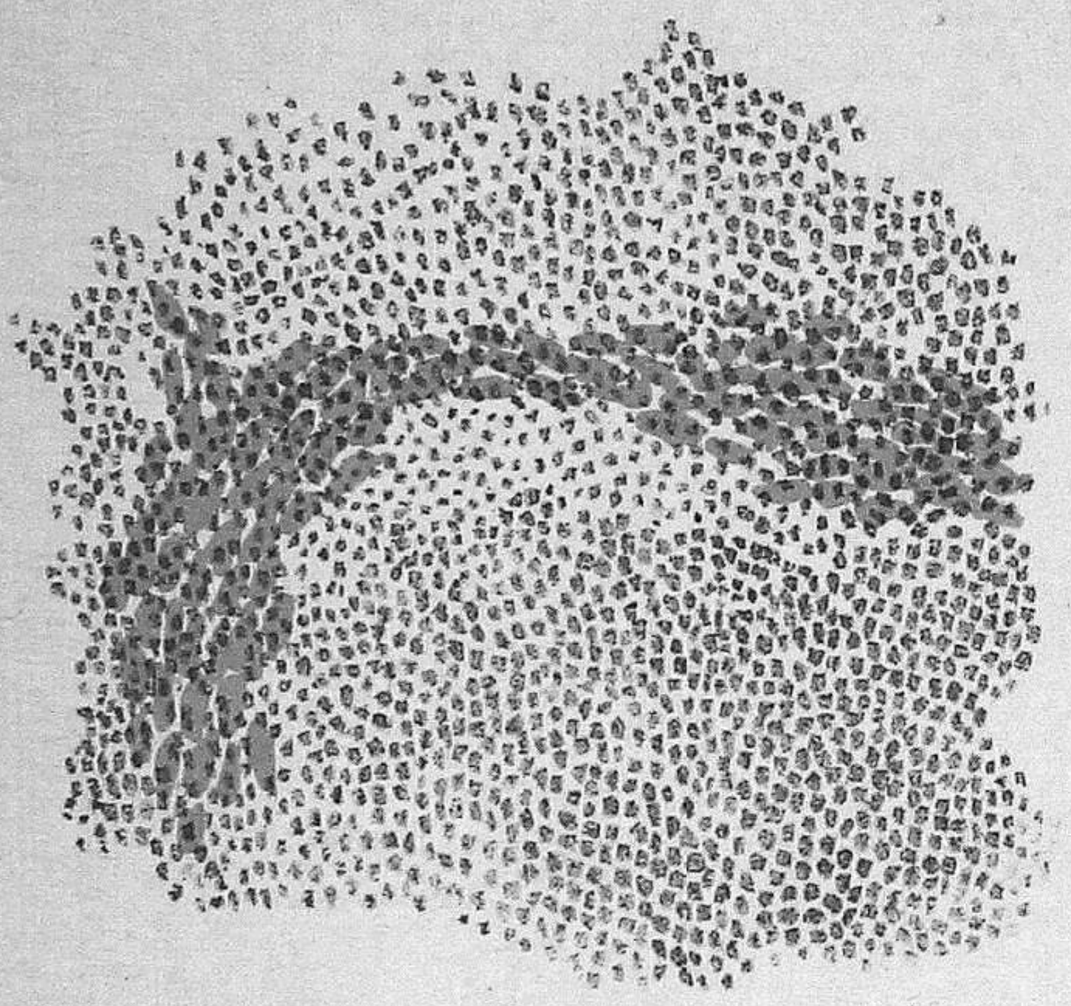
Fig. 3. Fegato di topolino dopo 15 giorni di trattamento e tre iniezioni. Blocchi di amiloide nelle pareti di vasi arteriosi e venosi ed in grembo al tessuto parenchimatoso.

Fig. 4. — Fegato di topolino che in 32 giorni ha ricevuto sottocute sette iniezioni di stafilococco aureo. L'amiloide si vede diffondersi dai vasi nel parenchima in senso raggiato.

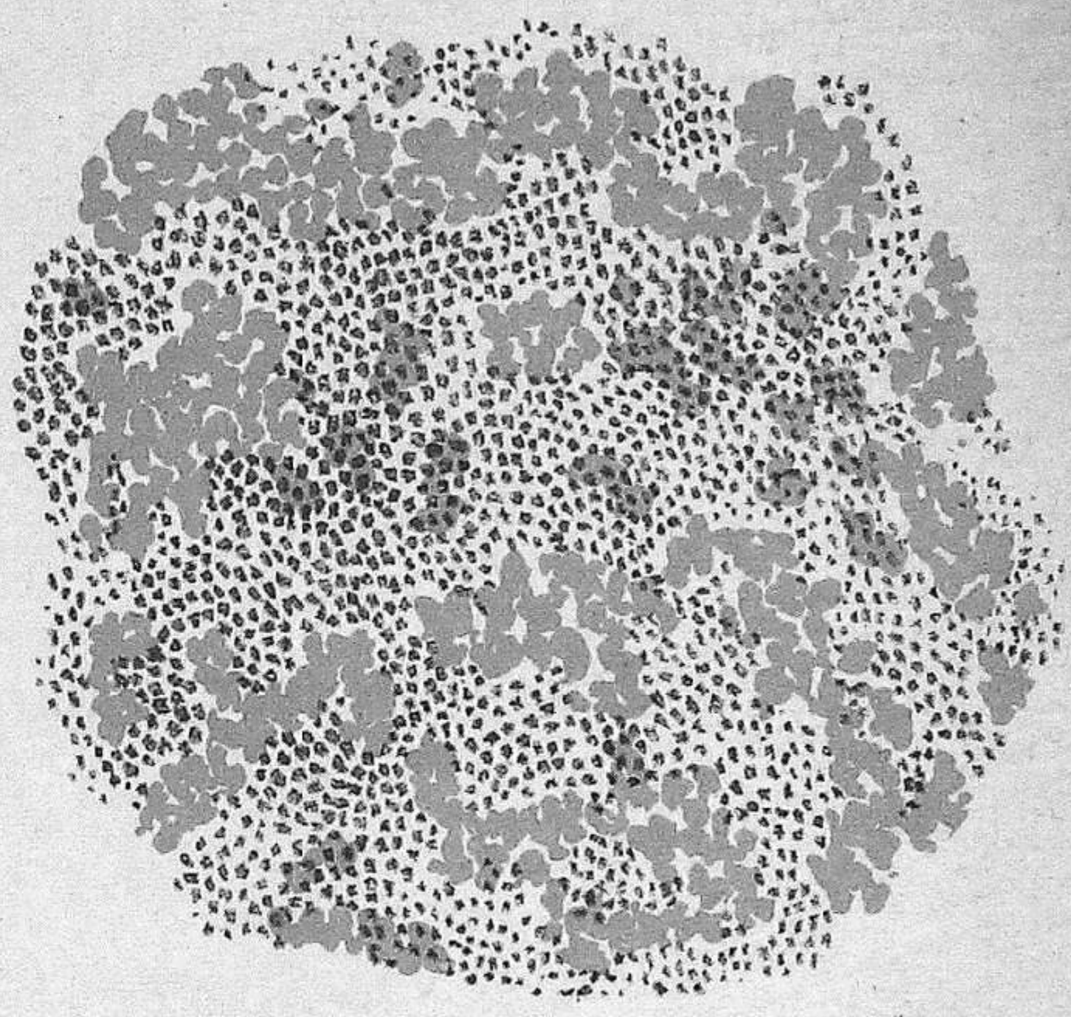
Fig. 5. — Amiloidosi completa delle anse glomerulari nel rene dello stesso topolino della figura precedente.

Fig. 6. — Reazione metacromatica in rosa della membrana di basamento degli epiteli ghiandolari di sottomascellare del topolino che ha ricevuto sotto cute tre iniezioni di brodocultura di stafilococco aureo in 15 giorni.

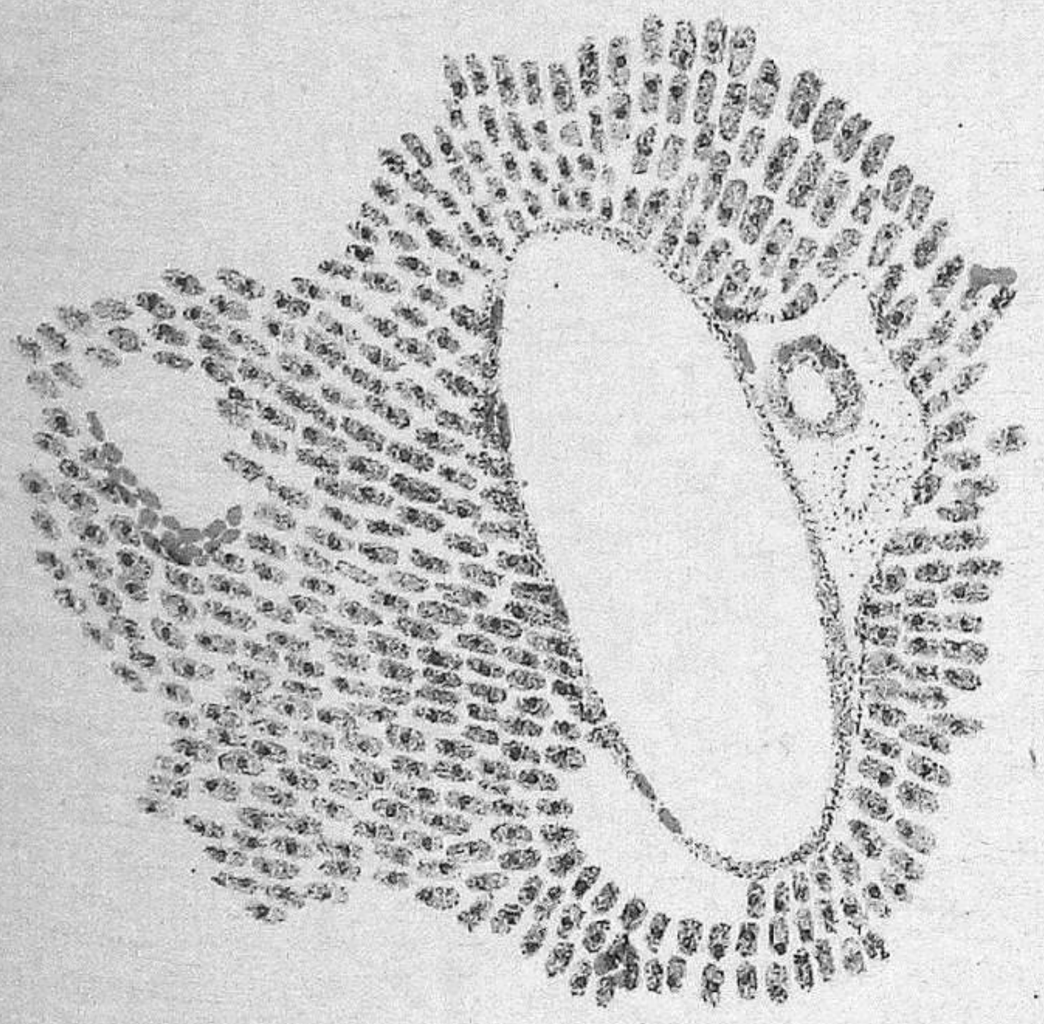
1



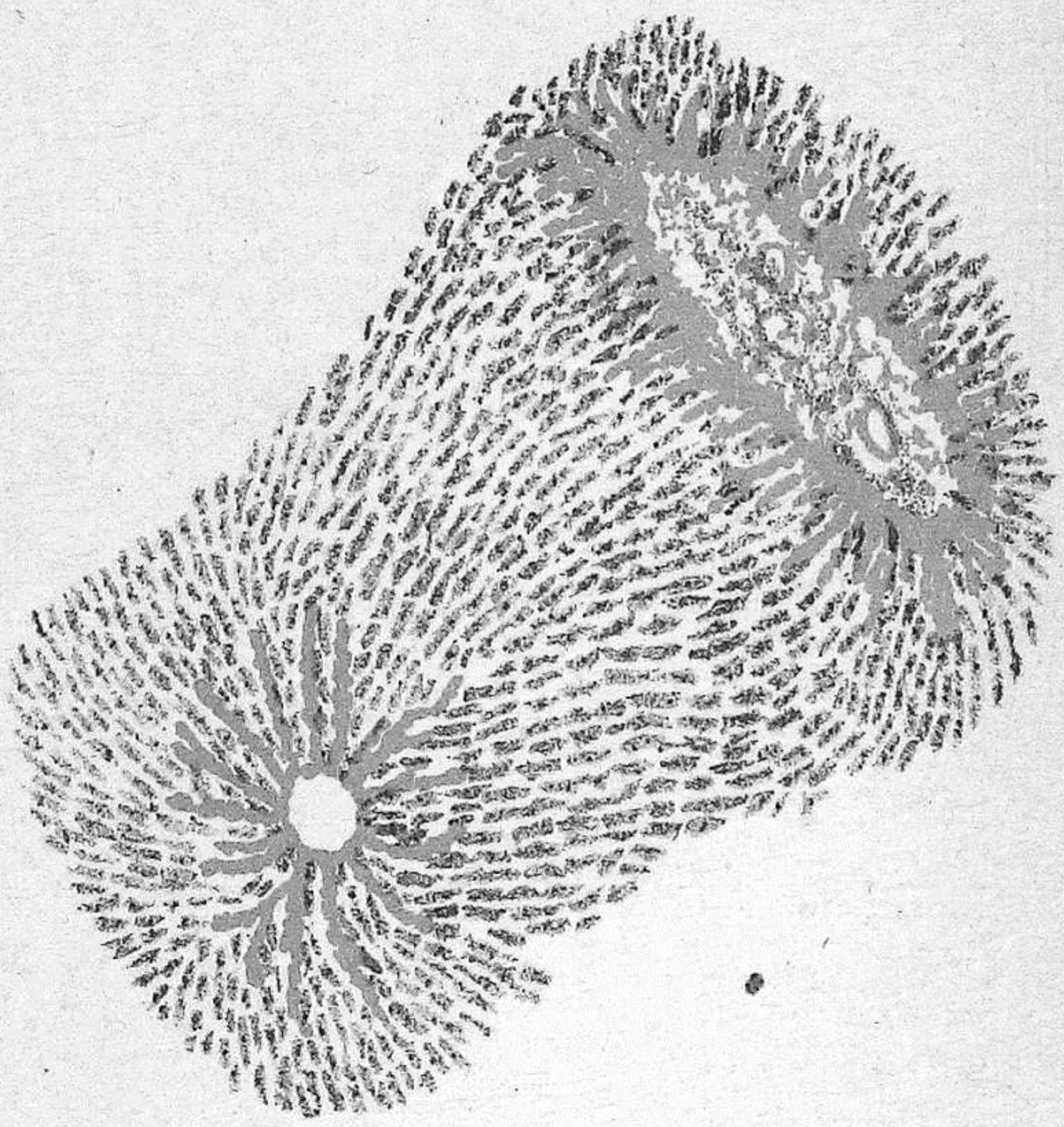
2



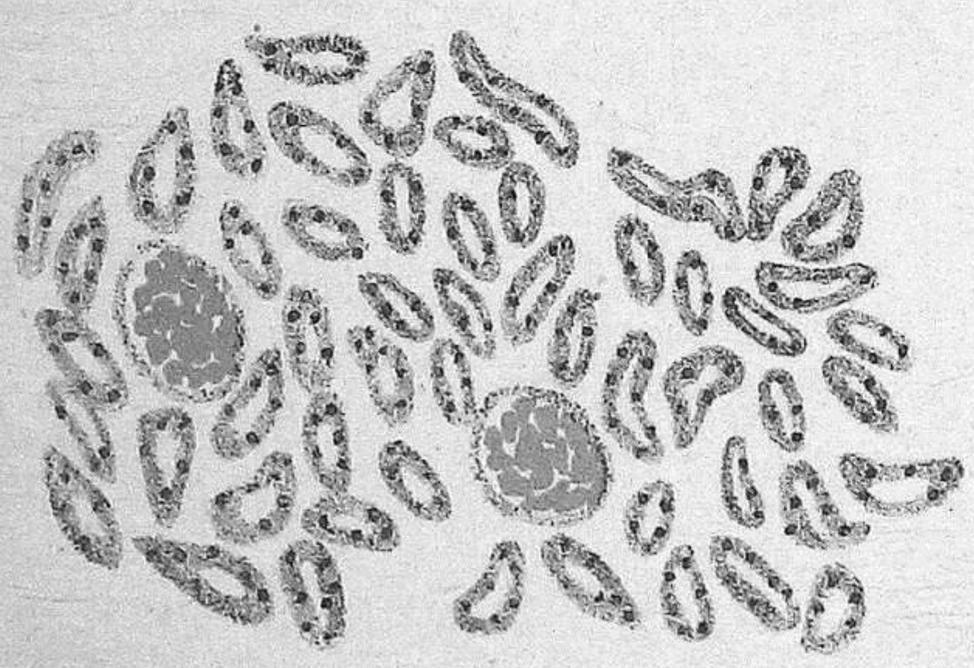
3



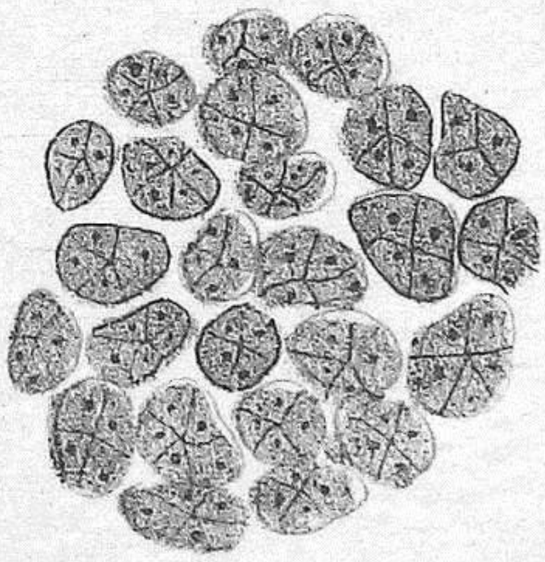
4



5



6



ANNO XXXII

La Clinica Veterinaria

Rivista Medico-Chirurgica,

di Polizia Sanitaria e d'Igiene

(SEZIONE PRATICA SETTIMANALE E SEZIONE SCIENTIFICA BIMESTRALE)

FONDATORE E DIRETTORE

Dr. N. LANZILLOTTI-BUONSANTI

Professore di Chirurgia e Direttore della R. Scuola Superiore di Medicina Veterinaria di Milano

REDATTORI:

Dr. PIETRO STAZZI
professore d'Igiene e Polizia Sanitaria

Dr. DOMENICO BERNARDINI
Libero Docente di Chirurgia e Assistente

nella R. Scuola Superiore di Medicina Veterinaria di Milano.

CONDIZIONI DI ABBONAMENTO

La **Clinica Veterinaria** è costituita da due giornali: una *Sezione pratica* ed una *Sezione scientifica.*

La *Sezione pratica*, costituta da un fascicolo di 16 pagine, si pubblica a Milano il sabato di ogni settimana.

La *Sezione scientifica*, costituita da un fascicolo di 48 pagine, si pubblica ogni bimestre.

L'abbonamento annuo (compresa la Sezione pratica e la Sezione scientifica) costa: **per l'Italia L. 10 - per l'Estero L. 12.**

L'abbonamento decorre sempre dal 1° gennaio di ogni anno e non viene mai frazionato. Non disdetto nel mese di novembre s'intende continuato per l'anno seguente.

Il giornale viene spedito solo a coloro che pagano anticipatamente l'abbonamento. Non si dà corso alle richieste senza l'importo.

L'Amministrazione invia ad ogni abbonato, il giorno stesso in cui riceve l'importo, una cartolina a stampa di ricevuta. Si spediscono, a richiesta, numeri di saggio.

I pagamenti devono essere diretti esclusivamente:

all'Amministrazione del giornale LA CLINICA VETERINARIA
MILANO - Via Lazzaro Spallanzani 26.